

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisa Pangan dan Mikrobiologi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang dan UMM *Bakery*. Kegiatan penelitian ini dimulai pada bulan Januari sampai April 2018.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan adonan beku dan roti manis dengan substitusi pati garut termodifikasi adalah *chest freezer*, oven merk Eccell, pisau, baskom, loyang, sendok, timbangan digital, dan mixer. Peralatan yang digunakan dalam analisa fisikokimia roti manis pati garut termodifikasi metode gelatinisasi-retrogradasi adalah kurs porselen, gelas beaker merk Iwaki Pyrex, tabung reaksi merk Iwaki Pyrex, labu erlenmeyer merk Iwaki Pyrex, pipet ukur, *rubber bulb*, gelas ukur merk Iwaki Pyrex, labu kjedahl merk Iwaki Pyrex, labu lemak merk Iwaki Pyrex, *muffle* (tanur tinggi), *cabinet dryer*, cawan petri merk Iwaki Pyrex, labu soxhlet, corong gelas merk Herma, spatula, *autoclave* model no. 1925x nomor seri B0004136, loyang, timbangan analitik merk Ohaus tipe PA413, Inkubator merk Incucell MMM, *laminary air flow*, vortex, sentrifugator, destilator, buret merk Emil England ML, statif, oven merk WTC Binder 7200 tipe E53 no. 89749, pinset, timbel, labu ukur merk Iwaki Pyrex, ayakan 80 mesh merk Retsch (8 inch DIA x 2 inch), kondensor, *hot plate* merk Maspion S-301, dan lemari asam. Alat terakhir adalah *Texture Profile Analyzer* (TPA EZ test model SM-500N-168) merk Shimadzu yang digunakan untuk uji kekerasan roti manis.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan produk adalah pati garut yang berasal dari petani di Kabupaten Pamekasan, Madura, Jawa Timur. Bahan selanjutnya adalah pati garut termodifikasi metode *gelatinization-retrogradation*, tepung terigu jenis *hard-flour* (kadar protein 12-13%), air dingin dan es, *dry yeast*, gula pasir, susu skim, mentega, telur utuh, glukomanan, dan garam.

Selain itu, bahan yang digunakan untuk analisa kimia roti manis pati garut termodifikasi adalah larutan petroleum benzene p.a, larutan asam sulfat (H_2SO_4) 98% p.a, larutan natrium hidroksida (NaOH) 50% p.a, larutan NaOH 0,1 N p.a, larutan folin ciocaltau (1:1) p.a, NaK Tratat p.a, CaCO_3 p.a, Cu_2SO_4 p.a, katalisator ($\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot \text{HgO}$ 20:1) p.a, asam borat (H_3BO_3) p.a, larutan asam klorida (HCl) 0,02 N p.a, indikator metil merah, dan aquades.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pertama proses pembuatan pati garut termodifikasi dengan metode *gelatinization-retrogradation* dan tahap kedua pembuatan adonan beku hingga menjadi roti manis berdasarkan perbedaan perbandingan substitusi pati garut termodifikasi dan konsentrasi glukomanan sebagai *cryoprotectant*.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial. Penelitian ini disusun dengan dua faktor yaitu faktor pertama adalah substitusi pati garut termodifikasi dan faktor kedua yaitu konsentrasi *cryoprotectant* berupa glukomanan serta pengelompokan berdasarkan hari pengulangan penelitian. Masing-masing perlakuan dilakukan pada 3 level dan ulangan dilakukan sebanyak

3 kali. Secara lebih detail, faktor-faktor yang digunakan sebagai perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

Faktor I: Konsentrasi Pati Garut Termodifikasi (G)

G0: 0,00% b/b berdasarkan berat terigu

G1: 3,75% b/b berdasarkan berat terigu

G2: 7,50% b/b berdasarkan berat terigu

Faktor II: Konsentrasi *Cryoprotectant* Glukomanan (C)

C0: 0,0% b/b berdasarkan berat adonan

C1: 0,5% b/b berdasarkan berat adonan

C2: 1,0% b/b berdasarkan berat adonan

Berdasarkan kedua perlakuan di atas, diperoleh 16 kombinasi perlakuan dengan tiga kali ulangan yang dijabarkan dalam Tabel 5 berikut.

Tabel 1. Perlakuan Produksi Roti Manis Substitusi Pati Garut Termodifikasi dengan Penambahan *Cryoprotectant* Glukomanan

Konsentrasi Pati Garut Termodifikasi (G)	Konsentrasi <i>Cryoprotectant</i> Glukomanan (C)		
	C0	C1	C2
G0	G0C0	G0C1	G0C2
G1	G1C0	G1C1	G1C2
G2	G2C0	G2C1	G2C2

Keterangan:

G0C0= Substituen Pati Garut Termodifikasi 0,00% dan Glukomanan 0,0%

G0C1= Substituen Pati Garut Termodifikasi 0,00% dan Glukomanan 0,5%

G0C2= Substituen Pati Garut Termodifikasi 0,00% dan Glukomanan 1,0%

G1C0= Substituen Pati Garut Termodifikasi 3,75% dan Glukomanan 0,0%

G1C1= Substituen Pati Garut Termodifikasi 3,75% dan Glukomanan 0,5%

G1C2= Substituen Pati Garut Termodifikasi 3,75% dan Glukomanan 1,0%

G2C0= Substituen Pati Garut Termodifikasi 7,50% dan Glukomanan 0,0%

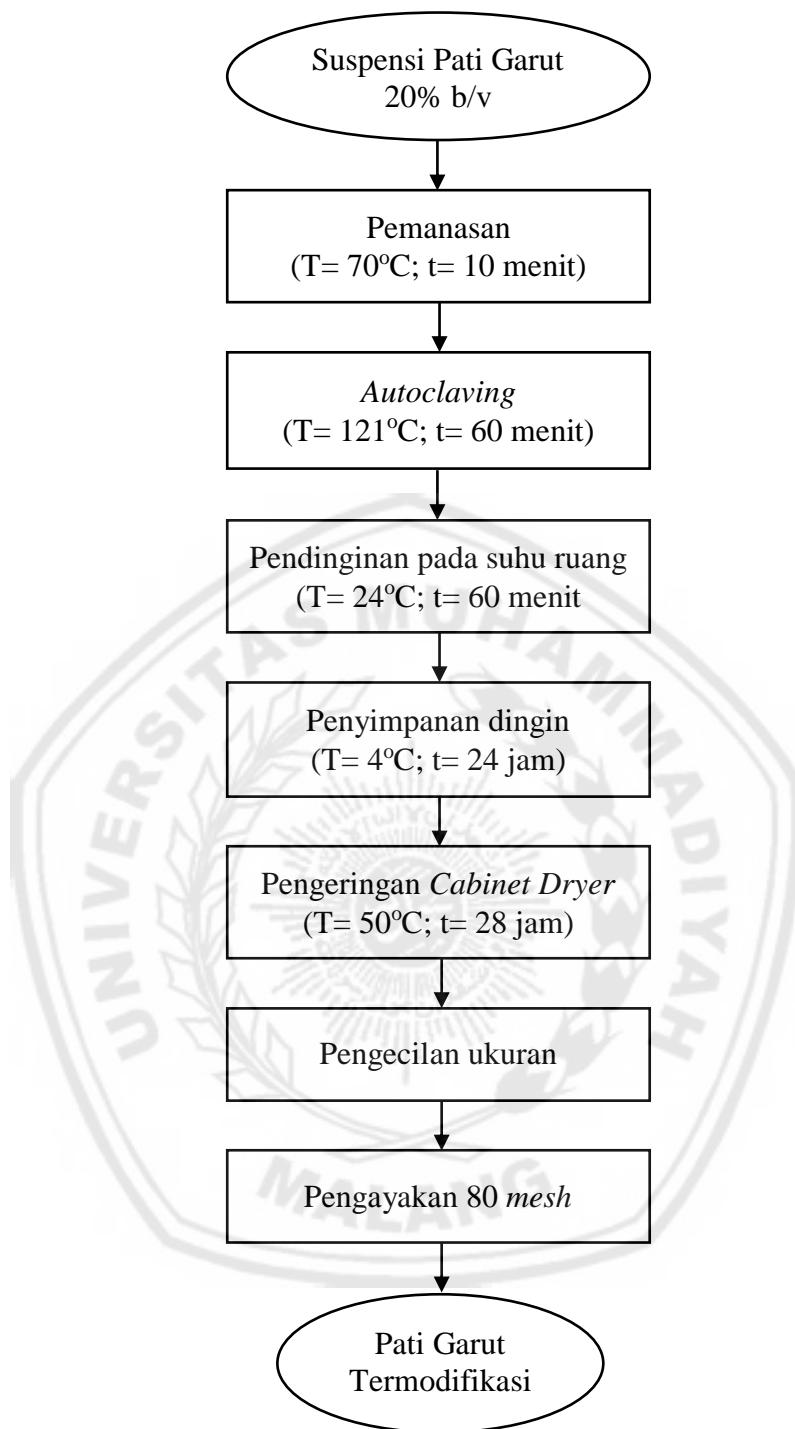
G2C1= Substituen Pati Garut Termodifikasi 7,50% dan Glukomanan 0,5%

G2C2= Substituen Pati Garut Termodifikasi 7,50% dan Glukomanan 1,0%

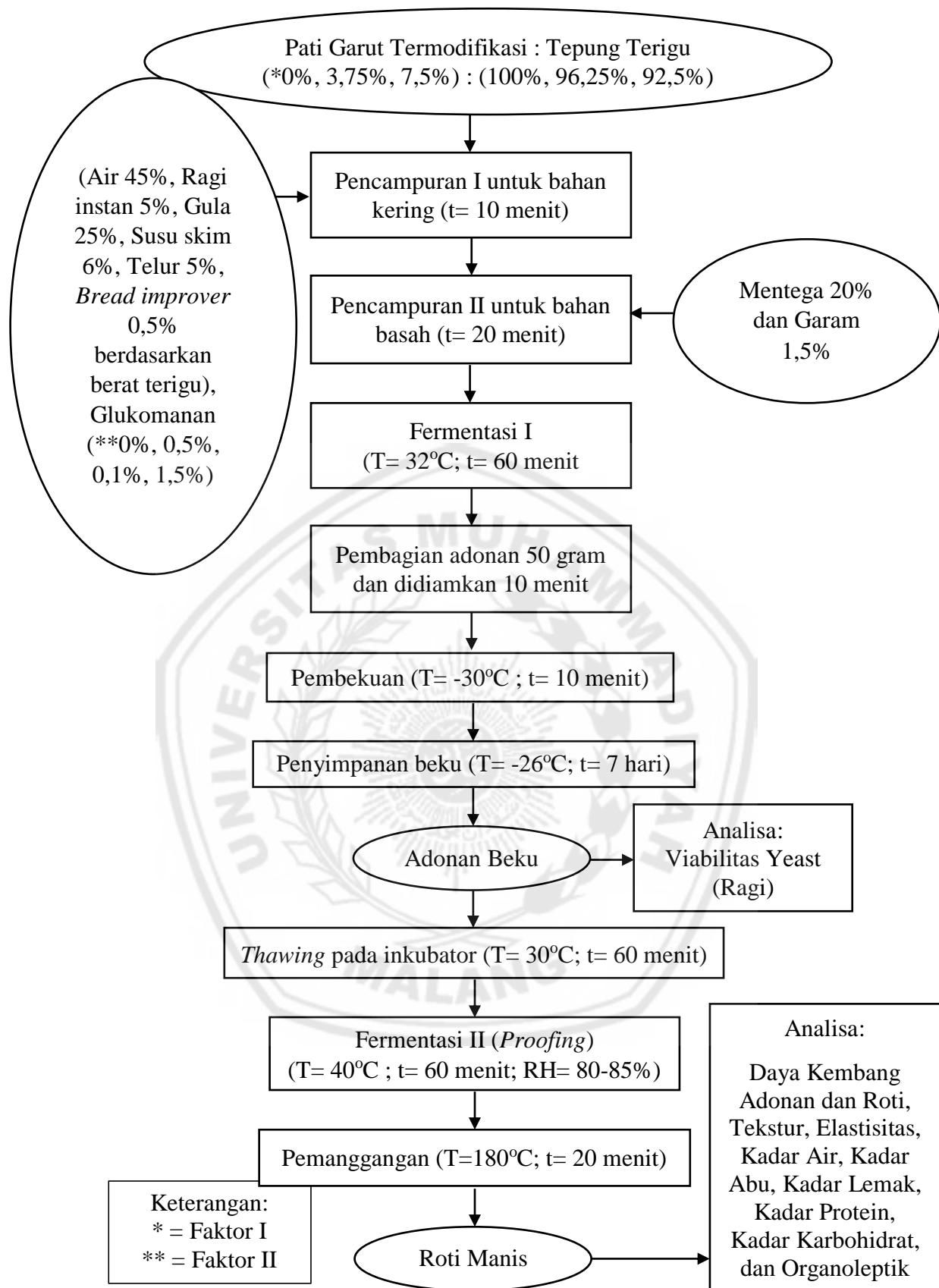
3.4. Prosedur Pelaksanaan Kegiatan Penelitian

3.4.1. Proses Modifikasi Pati Garut Metode Gelatinisasi-Retrogradasi

Pati garut disuspensikan dalam aquades (20% b/v) kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen dengan suhu 70°C selama 10 menit. Selanjutnya, suspensi pati diberi perlakuan panas tinggi dengan suhu sterilisasi komersial yaitu suhu 121°C selama 60 menit menggunakan *autoclave*. Setelah itu, suspensi pati didinginkan selama 1 jam pada suhu ruang (24°C), lalu diretrogradasi melalui pendinginan selama 24 jam pada suhu 4°C di dalam lemari pendingin. Setelah itu, pati dikeringkan dengan menggunakan *cabinet dryer* dengan suhu 50°C selama 28 jam. Kemudian, pati (*dried starch*) dihaluskan (*grounding*) menggunakan mesin grinder dan diayak dengan ukuran 80 mesh. Pati garut termodifikasi yang telah diayak disimpan di dalam kemasan plastik *polypropylene* tebal agar kedap air.



Gambar 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Pati Garut Termodifikasi Secara *Autoclaving-Retrogradasi* (Ratnaningsih, 2010)



Gambar 2. Diagram Alir Proses Pembuatan Adonan Beku Hingga Menjadi Roti Manis (Mellado dan Chang, 2003 dan Koswara, 2009 Modifikasi)

3.4.2. Proses Pembuatan Roti Manis

Proses pembuatan roti manis diawali dengan mencampurkan beberapa bahan antara lain tepung terigu, pati garut termodifikasi (sesuai perlakuan), ragi, gula, telur, dan air kemudian diaduk dengan *dough mixer* dengan kecepatan rendah selama ± 10 menit, kemudian sisa bahan (garam dan mentega) dimasukkan dan diaduk dengan kecepatan tinggi selama ± 20 menit atau sampai menjadi kalis. Kemudian adonan diistirahatkan (*proofing*) pada suhu 25°C selama 15 menit kemudian dilanjutkan pembuangan gas dari hasil fermentasi (*degassing*) dengan cara ditekan menggunakan penggilas atau *roller*. Setelah itu, adonan dibagi/dipotong rata dengan berat 50 gram (*dividing*), lalu dibulat-bulatkan (*moulding*) dan diistirahatkan selama 10 menit (*intermediate proofing*) di atas meja.

Adonan yang telah diistirahatkan tersebut dimasukkan ke dalam plastik *polypropylene* dan dilanjutkan proses pembekuan cepat dengan suhu -30°C menggunakan *chest freezer* selama 10 menit. Kemudian dilanjutkan penyimpanan beku dengan suhu -15°C selama 7 hari. Setelah penyimpanan selama 7 hari, adonan beku dilanjutkan dengan proses *thawing* menggunakan inkubator dengan suhu 30°C selama 60 menit. Setelah proses *thawing* selesai, adonan dilanjutkan fermentasi akhir (*final proofing*) menggunakan mesin *proofer* dengan suhu 40°C selama 60 menit dengan kelembaban relatif (RH) 80-85%. Selanjutnya, adonan dioven pada suhu 180°C selama ± 20 menit sampai warna roti manis menjadi kuning kecoklatan.

3.4.3. Parameter Penelitian

Parameter penelitian merupakan analisa yang digunakan untuk mengetahui hasil uji coba penelitian. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji fisik terhadap adonan (*dough*) dan roti (*bread*) meliputi volume adonan, volume

roti, tekstur (*hardness*), elastisitas, uji proksimat meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat dan (*by difference*), dan uji viabilitas yeast. Setelah pengujian fisik, kimia, dan viabilitas yeast terhadap adonan dan roti manis, dilanjutkan uji organoleptik meliputi rasa, tekstur, dan kesukaan.

3.4.3.1.Kadar Air Metode Gravimetri (Sudarmadji dkk., 1997)

- a. Kurs porselen dikalibrasi dengan cara dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada suhu 100°C, lalu didinginkan di dalam desikator dan ditimbang.
- b. Sebanyak 1- 2 gram sampel ditimbang, dimasukkan ke dalam kurs porselen yang telah dikalibrasi dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 105-110°C selama 3-5 jam tergantung bahan yang digunakan.
- c. Didinginkan di dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang.
- d. Setelah diperoleh hasil penimbangan pertama, kurs porselen yang berisi sampel tersebut dikeringkan kembali selama 30 menit, setelah itu didinginkan dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang.
- e. Kurs porselen ditimbang kembali hingga diperoleh berat konstan.
- f. Kadar air dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Berat awal}-\text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.4.3.2.Kadar Abu (Sudarmadji dkk., 1997)

- a. Kurs porselen dikalibrasi dengan cara dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada suhu 100°C, lalu didinginkan di dalam desikator dan ditimbang.
- b. Bahan dihaluskan dan ditimbang 2 gram, kemudian dimasukkan pada kurs porselen yang telah diketahui beratnya.
- c. Diabukan dengan *muffle* pada suhu 500-600°C selama 3 sampai 5 jam.

- d. *Muffle* dimatikan dan ditunggu hingga dingin (suhu dan tekanan sama dengan lingkungan di luar *muffle*), dipanaskan dalam oven selama 15 menit.
- e. Didinginkan dalam desikator dan ditimbang sebagai berat akhir.
- f. Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat akhir} - \text{berat cawan kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.4.3.3.Kadar Lemak Metode Soxhlet (Sudarmadji dkk., 1997)

- a. Labu lemak kosong dikalibrasi menggunakan oven selama 30 menit dengan suhu 100°C, lalu didinginkan di dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang.
- b. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam timbel yang terbuat dari kertas saring berbentuk tabung.
- c. Labu lemak berisi pelarut disambungkan pada soxhlet dan dihubungkan dengan pendingin balik.
- d. Sampel diekstraksi selama 4-6 jam, kemudian labu lemak diambil dan pelarut diuapkan menggunakan oven dengan suhu 110°C.
- e. Berat residu dalam botol lemak dinyatakan dalam berat lemak atau minyak dan dinyatakan sebagai berat akhir.
- f. Kadar lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{\text{Berat akhir} - \text{berat labu lemak kosong}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.4.3.4.Kadar Protein Metode Lowry

1. Pembuatan Kurva Standar

- a. Masukkan ke dalam tabung reaksi : 0 (blanko); 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 ml protein standar. Tambahkan aquades sampai volume total masing-masing 4 ml.

- b. Tambahkan 5,5 ml pereaksi (3) ke dalam masing-masing tabung reaksi, campur merata dan biarkan selama 10 – 15 menit pada suhu kamar.
- c. Tambahkan 0,5 ml pereaksi (4) ke dalam masing-masing tabung reaksi, kocok merata dengan cepat setelah penambahan. Biarkan selama kurang lebih 30 menit sampai warna biru terbentuk
- d. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 650 nm.
- e. Buat kurva standar.

2. Persiapan sampel

- a. Sampel disaring lalu disentrifuse. Supernatan kemudian ditambahkan air sampai volume total masing-masing 1 ml.
- b. Kedalam masing-masing tabung reaksi tambahkan 1 ml Trichloro Acetic Acid (TCA) 10%. Sentrifuse pada 3000 rpm selama 10 menit sampai protein yang terdenaturasi mengendap, supernatant dibuang dengan cara dekantansi.
- c. Ke dalam endapan tambahkan 2 ml etil eter, campur merata, kemudian sentrifuse kembali. Ini akan menolong menghilangkan residu TCA. Biarkan mengering pada suhu kamar.
- d. Ke dalam endapan kering ditambahkan 4 ml air, campur merata. Tambahkan 6 ml pereaksi Biuret.
- e. Ambil sampel 1ml dan tambahkan aquades sampai volume total masing-masing 4 ml.
- f. Tambahkan 5.5 ml pereaksi (3) ke dalam masing-masing tabung reaksi, campur merata dan biarkan selama 10 – 15 menit pada suhu kamar.

- g. Tambahkan 0.5 pereaksi (4) ke dalam masing-masing tabung reaksi, kocok merata dengan cepat setelah penambahan.
- h. Biarkan selama kurang lebih 30 menit sampai warna biru terbentuk
- i. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 650 nm.

3.4.3.5.Kadar Protein Metode Kjeldahl (Sudarmadji dkk., 1997)

- a. Bahan ditimbang 0,1 gram kemudian ditambahkan 1 spatula katalisator ($K_2SO_4.HgO$ 20:1).
- b. Sampel didekstruksi di lemari asam selama 4 jam atau sampai jernih.
- c. Ditambahkan 25 ml aquades dalam labu kjedahl, NaOH 50% sebanyak 10 ml dan didestilasi.
- d. Hasil destilasi ditampung dalam erlenmeyer yang diisi dengan 10 ml asam borat dan telah ditambahkan indikator metil merah sampai asam borat menjadi hijau muda.
- e. Hasil destilasi dititrasi dengan larutan HCl 0,02 N sampai berubah menjadi warna ungu muda.
- f. Kadar protein dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Nitrogen (\%)} = \frac{(\text{ml HCl} \times \text{N HCl}) \times 14,008}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \% \text{ Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi (6,25)}$$

3.4.3.6.Kadar Karbohidrat Metode By Difference (SNI 01-2973-1992)

- a. Hasil uji kadar air, abu, protein, dan lemak dikumulasikan menjadi satu.
- b. Kadar karbohidrat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Karbohidrat (\%)} = 100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar protein} + \text{kadar lemak} + \text{kadar abu})\%$$

3.4.3.7. Uji Kekerasan Metode Texture Profile Analysis (Ahmad dkk., 2010)

- a. Sampel dipotong untuk mendapatkan ukuran seragam dengan bentuk kubik berukuran 1,5 cm x 1,5 cm x 1,5 cm.
- b. Sampel ditekan dua kali dengan probe berbentuk silinder nomor 35 sampai dengan 40% dari ketinggian awalnya pada kecepatan penekanan konstan yaitu 1 mm/s
- c. Parameter TPA kekerasan (*hardness*) diamati dan dibahas. Kekerasan yaitu gaya yang dibutuhkan untuk menekan material sampel.
- d. Dalam pembacaan hasil *texture-gram*, kekerasan didefinisikan sebagai kekuatan puncak selama siklus kompresi pertama (gigitan pertama). Kekerasan dinyatakan dalam satuan kgf (kilogram *force*).

3.4.3.8. Uji Daya Kembang Adonan Roti (Asyikeen dkk., 2012)

- a. Adonan sebelum dan setelah *proofing* dihitung jari-jarinya menggunakan jangka sorong.
- b. Masing-masing adonan sebelum dan setelah *proofing* dihitung dengan rumus setengah bola ($\frac{4}{3}\pi r^3$).
- c. Volume adonan sebelum *proofing* dinyatakan sebagai V_1 dan adonan setelah *proofing* dinyatakan sebagai V_2 .
- d. Daya kembang roti spesifik dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Daya Kembang} = V_2 - V_1 \text{ atau } (\frac{4}{3}\pi r_{(2)}^3) - (\frac{4}{3}\pi r_{(1)}^3)$$

Keterangan : A = volume adonan sebelum *proofing*

B = volume adonan setelah *proofing*

3.4.3.9. Uji Daya Kembang Roti (Asyikeen dkk., 2012)

- Adonan sebelum *proofing* dihitung jari-jarinya menggunakan jangka sorong, kemudian adonan yang telah dipanggang juga dihitung jari-jarinya.
- Masing-masing adonan sebelum *proofing* maupun adonan setelah dipanggang dihitung dengan rumus setengah bola ($\frac{4}{3}\pi r^3$).
- Volume adonan sebelum *proofing* dinyatakan sebagai V_1 dan adonan yang telah dipanggang dinyatakan sebagai V_2 .
- Daya kembang roti spesifik dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Daya Kembang} = V_2 - V_1 \text{ atau } (\frac{4}{3}\pi r_{(2)}^3) - (\frac{4}{3}\pi r_{(1)}^3)$$

Keterangan : A = volume adonan sebelum *proofing*

B = volume adonan setelah pemanggangan

3.4.3.10. Uji Viabilitas Yeast (Asyikeen dkk., 2012)

- Tabung reaksi berisi 9 ml aquades, cawan petri, dan media *potato dextrose agar* (PDA 39 gram dalam 1 liter aquades) disterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- Sebanyak 1 gram sampel diambil untuk diencerkan di dalam tabung reaksi berisi aquades steril hingga pengenceran pangkat empat (10^4).
- Isolat *yeast* pada pengenceran keempat yang dihasilkan, dipindahkan ke media PDA steril. Kemudian diinkubasi dengan temperatur suhu 35°C selama 72 jam.
- Yeast* yang tumbuh dihitung jumlahnya sebagai tanda adanya pertumbuhannya.

3.4.3.11. Uji Organoleptik (Soekarto, 2013 dalam Hariati, 2015)

Uji organoleptik merupakan analisa sifat-sifat sensorik suatu komoditi dengan menggunakan panel yang bertindak sebagai instrumen atau alat. Alat ini sendiri terdiri dari orang atau kelompok orang yang disebut panel yang bertugas

menilai sifat atau mutu produk. Uji organoleptik dilakukan menggunakan metode hedonik dengan skala 1 sampai 4 sesuai dengan kategori uji. Pengujian melibatkan 26 panelis yang diminta menyatakan penilaiannya terkait produk pada lembar format yang telah disediakan.

Skala uji hedonik rasa terklasifikasi dalam empat penilaian sebagai berikut.

- | | |
|----------------------|----------------|
| 1= Sangat Tidak Enak | 4= Enak |
| 2= Tidak Enak | 5= Sangat Enak |
| 3= Cukup enak | |

Skala uji hedonik tekstur terklasifikasi dalam empat penilaian sebagai berikut.

- | | |
|----------------------|----------------|
| 1= Sangat Tidak Enak | 4= Enak |
| 2= Tidak Enak | 5= Sangat Enak |
| 3= Cukup enak | |

Skala uji hedonik kesukaan terklasifikasi dalam empat penilaian sebagai berikut.

- | | |
|----------------------|----------------|
| 1= Sangat Tidak Enak | 4= Enak |
| 2= Tidak Enak | 5= Sangat Enak |
| 3= Cukup enak | |

3.4.4. Analisis Data

Data pengamatan terhadap viabilitas yeast, fisikokimia, dan uji organoleptik dianalisa menggunakan analisa Ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh dari kedua perlakuan. Hasil yang menunjukkan adanya pengaruh nyata akan dianalisa menggunakan uji DMRT dengan taraf signifikan $\alpha=5\%$.